Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. Haffner

Antispastische Wirkungen am Froschrektum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Ernst Wacker
approb. Arzt
aus Tübingen

1940

Buchdruckerei Albert Becht, Tübingen, Hirschgasse 16

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

Dekan: Prof. Dr. F. Haffner

Berichterstatter: Prof. Dr. F. Haffner

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner Mutter gewidmet!

In Versuchen, die im letzten Jahre im Pharmakologischen Institut in Tübingen angestellt worden waren, war an verschiedenen Objekten die krampflösende Wirkung von Narkotika, Lokalanaesthetika und einer Anzahl quaternärer Derivate von Belladonna-Alkaloiden untersucht worden.

Die vorliegende Arbeit hat die Aufgabe, an dem nach Schüller isolierten Froschrektum entsprechende Untersuchungen anzustellen. Der Untersuchung wurden zwei Arten von Krampfzuständen zu Grunde gelegt:

1. der Acetylcholinspasmus
2. der Bariumspasmus.

Die Absicht, unsere Stoffe auch gegenüber einem Histaminspasmus zu prüfen, scheiterte daran, daß sich mit Histamin bei einer Konzentration von 1 : 500 bis 1 : 250 000 keinerlei Andeutung einer spastischen Wirkung erzielen ließ. Bei den höheren Konzentrationen kommt es im Gegenteil zu einer Erschlaffung des Präparates.

Es wurden auch Versuche mit Hypophysin angestellt. Auch hier zeigt sich nur eine sehr schwache, für unsere Zwecke nicht brauchbare Wirkung. 1,5 V.E. auf 25 ccm Ringerlösung zeigte die erste geringgradige und langsam einsetzende Tonuserhöhung, wobei die Einzelkontraktionen nicht verändert waren.

Arbeitsweise.

Nach Tötung des Frosches und Zerstörung des Rückenmarks wird zuerst durch Enfernung der beiden Femurgelenkköpfe und durch Eröffnung der Bauchdecke der Beckenring freigelegt. Darauf wird unter größter Vorsicht auf die nun zu Tage tretende Ampulle die vordere Hälfte des Beckenrings abgetragen. Der Darm wird nun nach Durchstoßung des Mesenteriums unmittelbar vor seiner Erweiterung zur Ampulle abgebunden und oberhalb der Abbindung abgeschnitten. Die vom Darm abgetrennte Ampulle wird an der Abbindung emporgehoben und das Mesenterium der Ampulle vorsichtig durchtrennt. Es ist dabei wichtig, die Ampulle nicht zu zerren. Nach Abtragung der vor der Ampulle liegenden Harnblase wird die Ampulle und vor allem ihr muskulöser Endabschnitt unter größter Schonung herauspräpariert. Ich habe immer, um eine Anschlingmöglichkeit zu haben, einen kleinen Teil der Außenhaut am Darm belassen. Während der Zeit der Präparation ist es wichtig, das Präparat einigemale mit Ringerlösung für Kaltblüter anzufeuchten. Ist die Ampulle mit Kot angefüllt, so drückt man sie vorsichtig aus, ohne zu zerren. Das Präparat wurde dann in Ringerlösung aufgehängt und diese mit einem gleichmäßigen Luftstrom durchperlt. Die Ringerlösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	0,6 %
KCl	0,01 %
$CaCl_2$	0,01 %
$NaHCO_3$	0,01 %

Im allgemeinen verharren die Präparate vor allem bei langer Präparationsdauer etwa 10—15 Minuten in starker Kontraktionsstellung. Nach dieser Wartezeit sinkt der Tonus der Längsmuskulatur. Das Präparat kontrahiert sich in ziemlich gleichmäßigen Abständen. Die Kontraktionen treten weder vollständig rhytmisch auf, noch ist die Kontraktionshöhe gleichmäßig groß. Da es sich bei unseren Substanzen um Mittel handelte, deren erschlaffende Wirkung wir prüfen wollten, erzeugten wir einen künstlichen Spasmus vor Zugabe der zu prüfenden Substanz.

Ein Versuch verlief folgendermaßen:

Die vorgelegte Flüssigkeitsmenge betrug 25 ccm. Zu dieser Lösung wurde zunächst das spasmenerzeugende Mittel hinzugegeben (in der Menge zwischen 0,5 und 1,5 ccm der betr. Lösung). Es wurde dann abgewartet bis der gewünschte Kontraktionszustand erreicht war. Die Wartezeit betrug zwischen 6—8 Minuten. Darnach wurde das zu untersuchende spasmenlösende Präparat, gewöhnlich in der Menge zwischen 0,1 und 1 ccm hinzugegeben. Nun wurde die Wirkung abgewartet. War sie schwach, so wurde nach 5—7 Minuten der Versuch abgebrochen und der Darm mehrmals in frischer Ringerlösung gewaschen. Bei starker Wirkung wurde nach kürzerer Zeit gespült, um das Präparat noch für weitere Versuche gebrauchen zu können.

Um die Wirkungsstärke einer Substanz zu prüfen, wurde zunächst die wirksame Konzentration aufgesucht und zwar so, daß eine schwache und eine starke Wirkung erzielt wurde. Als schwache Wirkung wurde angesehen, wenn ein allmähliches Sinken des Tonus eintrat ohne daß die Kontraktionen vollständig aufgehoben wurden. Als starke Wirkung wurde eine rasche Erschlaffung bis zum Ausgangstonus unter Verschwinden jeder Kontraktion bezeichnet. Sowohl bei der schwachen wie bei der starken Wirkung trat eine vollkommene Erholung des Präparates nach einer Spülpause von 5—10 Minuten ein. Die zu einer pharmakologischen Gruppe gehörigen Substanzen wurden auf diese Weise an demselben Rektumpräparat verglichen. Die als wirksam gefundene Konzentration wurde zwischen der Vergleichskonzentration eingeklammert. Nach wiederholten Versuchen sank der Tonus des Präparates in der Ringerlösung, sowohl in der reinen Ringerlösung als auch nach Hinzugabe des spasmenerzeugenden Mittels. Mit einem Präparat konnten durchschnittlich 6—9 Einzelversuche gemacht werden.

Mit Rücksicht auf evtl. saure oder alkalische Reaktion unserer Lösungen wurde zunächst der Einfluß der Reaktion auf das Präparat festgestellt:

a) Salzsäure.

Bei einer Konzentration von $\frac{n}{25000}$ HCl ist ein leichtes Sinken des Tonus ohne Beeinträchtigung der Kontraktilität festzustellen. Bei $\frac{n}{2500}$ HCl sinkt der Tonus rasch ab, die Kontraktionen hören auf. Diese Lähmung ist jedoch gut reversibel.

b) Natronlauge.

Bei einer Konzentration von $\frac{n}{25000}$ NaOH ist keine Wirkung vorhanden. Bei $\frac{n}{2500}$ NaOH tritt ein deutliches Steigen des Tonus ein. Die Erschlaffung nach der Konzentration ist dabei verlangsamt. $\frac{n}{800}$ NaOH setzt den Tonus noch weiter hinauf, wobei die Kontraktionshöhe abnimmt. Bei $\frac{n}{250}$ NaOH erreicht das Präparat maximale Tonushöhe. Es führt dabei noch kleine Kontraktionen aus. Dieser Kontraktionszustand ist noch reversibel.

c) Phoshatpuffer.

Wir verwendeten Puffergemische aus primärem und sekundärem Phosphat, in einer Konzentration $\frac{M}{75}$. Bei der Reaktion des primären Phosphats (ca P^H 5) tritt eine rasche Abnahme des Tonus und der Kontraktionen ein. Bei P^H 6 ist das Verhalten des Präparates dasselbe. Bei P^H 6,6 ist der Tonus nicht beeinflußt, dagegen nimmt die Häufigkeit der Kontraktionen erheblich ab. Bei P^H 6,8 war keine Beeinflußung der Tätigkeit zu beobachten. Schon die leicht alkalische Reaktion von 7,4 setzt den Tonus des Präparates bei erhaltener guter Kontraktilität hinauf. Bei P^H 8 war dasselbe zu beobachten.

I. Die Wirkung der spasmenerzeugenden Mittel.

a) Acetylcholin:

Wie schon oben erwähnt, zeigt das Rektum schon in reiner Ringerlösung eine gute periodische Tätigkeit, die auch nach wiederholtem Spülen beibehalten wird. Es scheint hier eine gewisse Abhänigkeit von der Jahreszeit zu bestehen. Im Sommer war ein

etwas abweichendes Verhalten zu beobachten, insofern als nach wiederholtem Spülen das Präparat seine Kontraktionsfähigkeit einstellte, sie konnte jedoch durch kleinste Mengen von Acetylcholin wieder wachgerufen werden. Diese Schwierigkeit bestand bei unseren Versuchen, die im Winter durchgeführt wurden, nicht. Wir beobachteten folgende Wirkungen des Acetylcholins: bei sehr kleinen Konzentrationen (1 : 10 Millionen) war zunächst eine Zunahme der Einzelkontraktion festzustellen, ohne Tonussteigerung. Mit Erhöhung der Konzentration (1 : 250 000) stellt sich ein höherer Tonus des Präparates ein, bei dem noch ausgiebige Kontraktionen bestehen. Bei hohen Konzentrationen (1 : 50 000) erfolgt ein steiler Anstieg des Tonus, das Präparat macht nur kleine Konzentrationen, und wird mit allmählich sich noch mehr erhöhendem Tonus vollkommen spastisch.

Zur Erzeugung des Spasmus bei unseren Versuchen wählten wir die Konzentration von 1 : 50 000.

b) Bariumchlorid:

Eine Konzentration von 1 : 125 000 zeigt noch keine Wirkung. Bei Konzentrationen zwischen 1 : 10 000 und 1 : 20 000 steigt der Tonus an, ohne daß die Kontrakttionsfähigkeit leidet. Man kann dabei beobachten, daß die eingetretenen Kontraktionen langsamer erschlaffen als in Ringerlösung allein. Bei Konzentrationen von 1 : 5000 bis 1 : 1000 nimmt der Tonus des Präparates stark zu. Die Kontraktilität des Präparates nimmt dabei ab. Nach der Spülung dauert es eine längere Zeit, bis sich nach Sinken des Tonus die normale Kontraktilität wieder einstellt. Es war jedoch auch bei diesen hohen Konzentrationen die Wirkung des Bariumchlorid stets reversibel. Als Versuchskonzentration wählten wir 1 : 2500.

II. Die Wirkung der spasmenlösenden Mittel.

Die Versuchsergebnisse sind im folgenden tabellarisch aufgeführt, wobei jeweils die für schwache und die für starke Spasmolyse gefundenen Wirkungskonzentrationen angegeben sind.

Substanz	Acetylcholin 1 : 50 000	Bariumchlorid 1 : 2500
1. Kaliumchlorid	schwach 1 : 3000 stark 1 : 1500	schwach 1 : 25000 stark 1 : 6000
2. Magnesiumchlorid	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000	schwach 1 : 4500 stark 1 : 3000
3. Natriumnitrit	schwach 1 : 2500 stark 1 : 1000	schwach 1 : 650 stark: bis 1 : 200 keine starke Wirkung
4. Amylnitrit	schwach 1 ccm stark 2 ccm	einer 2% ges. Lösung
5. Benzylalkohol	schwach ½ ccm stark 1 ccm	einer 2% ges. Lösung
6. Urethan	schwach 1 : 50000 stark 1 : 1500	schwach 1 : 2500 stark 1 : 1250
7. Chloralhydrat	schwach 1 : 12500 stark 1 : 3000	schwach 1 : 10000 stark 1 : 5000
8. Veronal-Natrium	schwach 1 : 1500 stark 1 : 350	schwach 1 : 1500 stark 1 : 750
9. Luminal-Natrium	schwach 1 : 3000 stark 1 : 750	
10. Antipyrin	schwach 1 : 12500 stark 1 : 4500	schwach 1 : 2500 stark 1 : 800
11. Pyramidon	schwach 1 : 50000 stark 1 : 25000	schwach 1 : 10000 stark 1 : 5000
12. Kokain	schwach 1 : 250000 stark 1 : 50000	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000
13. Tropacocain	schwach 1 : 12500 stark 1 : 9000	
14. Novocain	schwach 1 : 25000 stark 1 : 12500	schwach 1 : 5000 stark 1 : 2500
15. Pantocain	schwach 1 : 30000 stark 1 : 15000	schwach 1 : 6000 stark 1 : 3000
16. Alcain	schwach 1 : 20000 stark 1 : 5000	
17. Morphin	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000
18. Codein	schwach 1 : 6000 stark 1 : 2000	schwach 1 : 12500 stark 1 : 3000
19. Thebain	schwach 1 : 6000 stark 1 : 3000	
20. Papaverin	schwach 1 : 5 Mill. stark 1 : 1 Mill.	schwach 1 : 1 Mill. stark 1 : 250000

Substanz	Acetylcholin 1 : 50000	Bariumchlorid 1 : 2500
21. Eupaverin	schwach 1 : 2,5 Mill. stark 1 : 1 Mill.	schwach 1 : 750000 stark 1 : 250000
22. Narkotin	schwach 1 : 50000 stark 1 : 12500	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000
23. Dolantin	schwach 1 : 100000 stark 1 : 50000	
24. Oktin	schwach 1 : 100000 stark 1 : 50000	
25. Sestron	schwach 1 : 100000 stark 1 : 60000	schwach 1 : 100000 stark 1 : 60000
26. Atropin	schwach 1 : 20 Mill. stark 1 : 5 Mill.	schwach 1 : 2500 stark 1 : 300
27. N-Methyl-Atropin	schwach 1 : 100 Mill. stark 1 : 25 Mill.	
28. N-Propyl-Atropin	schwach 1 : 100 Mill. stark 1 : 25 Mill.	
29. N-Butyl-Atropin	schwach 1 : 250 Mill. stark 1 : 50 Mill.	schwach 1 : 12500 stark 1 : 4500
30. N-Benzyl-Atropin	schwach 1 : 12,5 Mill. stark 1 : 5 Mill.	
31. Homatropin	schwach 1 : 5 Mill. stark 1 : 2,5 Mill.	
32. Novatropin	schwach 1 : 25 Mill. stark 1 : 2,5 Mill.	
33. Scopolamin	schwach 1 : 10 Mill. stark 1 : 2,5 Mill.	
34. N-Methyl-Scopolamin	schwach 1 : 250 Mill. stark 1 : 100 Mill.	
35. N-Propyl-Scopolamin	schwach 1 : 250 Mill. stark 1 : 125 Mill.	
36. N-Butyl-Scopolamin	schwach 1 : 100 Mill. stark 1 : 20 Mill.	
37. Syntropan	schwach 1 : 5 Mill. stark 1 : 750000	schwach 1 : 10000 stark 1 : 2500
38. Trimethylamin	schwach 1 : 3000 stark 1 : 500	
39. Tetramethylammoniumjodid	schwach 1 : 50000 stark 1 : 12500	schwach 1 : 6000 stark 1 : 3000
40. Tetraaethylammoniumchlorid	schwach 1 : 50000 stark 1 : 12500	schwach 1 : 2500 stark 1 : 1000

Substanz	Acetylcholin 1 : 50000	Bariumchlorid 1 : 2500
41 Deriphyllin	schwach 1 : 10000 stark 1 : 2500	schwach 1 : 1500 stark: bis 1 : 300 keine starke Wirkung
42. Ephedrin	schwach 1 : 3000 stark 1 : 1500	
43. Benzedrin	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000	
44. Methylbenzedrin	schwach 1 : 25000 stark 1 : 12500	
45. Trimethylbenzedrin	schwach 1 : 125000 stark 1 : 4500	
46. Coffein-Natr.-Benzoicum	schwach 1 : 10000 stark 1 : 2500	schwach 1 : 5000 stark 1 : 2500
47. Histamin	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000	schwach 1 : 6000 stark 1 : 3000
48. Curare	schwach 1 : 12500 stark 1 : 3000	schwach 1 : 12500 stark 1 : 6000

Ergebnisse.

Die für unsere Fragestellung wesentlichen Ergebnisse der Untersuchung lassen sich dahin zusammenfassen:

Gegenüber dem Acetylcholinspasmus nimmt die lösende Wirksamkeit der untersuchten Stoffe in der folgenden Reihe ab:

Substanzgruppe	Konzentration für starke Wirkung
N-alkylierte Atropine und Scopolamine	1 : 100—250 Millionen
Atropingruppe	1 : 5—20 „
Papaveringruppe	1 : 2,5—5 „
Cocain	1 : 250 000
quarternäre Ammoniumbasen	1 : 50 000
Pyramidon	1 : 50 000
synthet. Lokalanaesthetika	1 : 20—30 000
Chloralhydrat	1 : 12 501
Veronal, Luminal	1 : 1500—3000

Die spezifische Wirksamkeit der parasymapthisch-lähmenden Mittel tritt somit klar hervor. Unter den unspezifischen Spasmolytika wirkt Papaverin am stärksten; die Wirkung der basischen Lokalanaestetika ist wesentlich stärker wie die der Barbitursäurederivate.

Gegenüber dem Bariumspasmus tritt die spezifische Wirkung der Atropingruppe nicht mehr hervor; ihre Wirksamkeit ist über tausendmal schwächer als gegenüber Acetylcholin. Die Wirkung der unspezifischen Mittel ist ebenfalls deutlich, aber doch nicht wesentlich abgeschwächt.

Lebenslauf.

Am 28. Juni 1912 bin ich als Sohn des Kaufmanns Fritz Bernhard W a c k e r in Tübingen geboren. Ich besuchte dort die Oberrealschule und bestand im Frühjahr 1932 die Reifeprüfung. Anschließend studierte ich 1 Semester Rechtswissenschaft. Im WS 1932/33 begann ich mit meinem Medizinstudium. Nach einem medizinischen Semester war ich 3 Monate beim freiwilligen Arbeitsdienst und machte im WS 1933/34 das Vorphysikum in Tübingen. Die beiden folgenden Semester verbrachte ich in Kiel und bestand dort im WS 1934/35 das Physikum. Nach 2 weiteren Semestern in Kiel beendete ich mein Medizinstudium in Tübingen mit dem Staatsexamen im Herbst 1938. Vom 2. November 1938 bis zum 2. November 1939 war ich Medizinalpraktikant. Das praktische Jahr verbrachte ich zum ersten drittel im Pathologischen Institut, zum 2. Drittel in der Medizinischen Poliklinik und beendete es in der Medizinischen Klinik in Tübingen.

Ernst Wacker.